黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对不同虫态褐飞虱的毒力

李茂业，林华峰*，李世广，金 立
（安徽农业大学植物保护学院，合肥 230036）

摘要：对水稻重要害虫褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 目前市场上尚无一种理想的微生物杀虫剂。昆虫病原真菌具有从体壁侵入的能力因而对刺吸性害虫的防治具有优势。为此，本研究选用不同原寄主和来源地的 3 种昆虫病原真菌（金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、黄绿绿僵菌 *Metarhizium flavoviride* 和球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*）的 12 个不同菌株，以 1 100 孢子/mm^2 孢子悬浮液进行室内毒力测定。结果表明：在参试的不同菌种 12 个菌株中，黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱成虫致病力最高，10 d 累计校正死亡率为 83.5%，致死中时（LT_{50}）为 4.6 d。其不同浓度孢子液对褐飞虱 3 个发育阶段有不同程度的致病力，毒力大小顺序为成虫 > 高龄若虫 > 低龄若虫。黄绿绿僵菌孢子液对各处理稻株褐飞虱产卵痕部位、卵粒均有侵染作用，10 d 侵染率分别为 66.7% 和 51.2%，卵龄越低，侵染效果越好，卵龄为 0.5 d 时侵染率最高。本研究表明黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱成虫、若虫和卵均有较强的致病性，是一株极具应用潜力的生防真菌。

关键词：褐飞虱；金龟子绿僵菌；黄绿绿僵菌；球孢白僵菌；毒力；致病力；侵染率
中图分类号：Q965.8 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2012)03-0316-08

Virulence of *Metarhizium flavoviride* 82 to different developmental stages of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae)

LI Mao-Ye, LIN Hua-Feng*, LI Shi-Guang, JIN Li (College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: At present there still lacks ideal commercial microbial insecticides to control the brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål), an important pest of rice in Asia. Entomopathogenic fungi can penetrate the cuticle of insect hosts and thus have the advantage of controlling sucking pests. In this study, laboratory bioassays were carried out on 12 isolates of three entomopathogenic fungal species, *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviride* and *Beauveria bassiana*, which were originally obtained from various hosts and geographic origins, for their virulence against BPH adults. The results showed that at the concentration of 1 100 conidia/mm^2, the strain Mf82 had the highest virulence to adults with the corrected mortality reaching 83.5% within 10 d after treatment and the LT_{50} value 4.65 d. The pathogenicity of Mf82 to adults, nymphs at different instars and eggs of BPH were further assessed at a series of conidial concentrations. This strain was most virulent to adults, moderately virulent to old nymphs, and least virulent to young nymphs. It was also found that Mf82 could infect both oviposition marks and eggs in rice seedlings, with the infection rates of 66.7% and 51.2%, respectively, at 10 d after treatment. The younger the eggs, the higher the infection rate, with the 0.5 d-old eggs to be the most easily vulnerable. The results suggest that Mf82 is a promising biocontrol agent for BPH.

Key words: *Nilaparvata lugens*; *Metarhizium anisopliae*; *Metarhizium flavoviride*; *Beauveria bassiana*; toxicity; pathogenicity; infection rate

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 是一种嗜食水稻、食性单一的害虫，自 20 世纪 50 年代以来逐渐发展成为我国和许多其他亚洲国家水稻的主要害虫。近 20 年来，褐飞虱在我国大发生的频率明显提高，造成的损失加重，人们对其褐飞虱的研究也在不断加强（Jin *et al.*, 2008）。施用化学农药防治此虫，不仅造成生态环境和农产品污染，还使其抗药性急剧增强，致使许多化学农药失去控制效果

基金项目：国家“863”计划项目（2011AA10A205）；公益性行业（农业）科研专项（03_200803003）
作者简介：李茂业，男，1981 年生，安徽凤阳县人，博士研究生，主要从事昆虫病理及害虫生物防治，E-mail: sj412bq@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: hf.lin@163.com
收稿日期 Received: 2011-10-11；接受日期 Accepted: 2012-03-06

(Chung *et al.*, 1982; Liu *et al.*, 2003)。开展生物防治，可降低化学农药的使用量，减少环境污染，有利于保护天敌，发挥其对害虫的自然抑制作用。昆虫病原真菌具有从体壁侵入的能力，因而对刺吸性害虫的防治容易见效，在田间能形成再侵染而具有持续控制害虫的潜力，此外，真菌不需活体繁殖，可在人工培养料上大量生产并象化学农药一样运输和使用，由于这些优点，真菌杀虫剂在多种农林害虫防治上已成功应用(Alves *et al.*, 2005；林华峰等，2006；Song and Feng, 2011)。在昆虫病原真菌中，金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 和球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 应用广泛，已经被开发为多种剂型，用于防治蚜虫、叶蝉、松毛虫和蝗虫等农林害虫(蒲蛰龙和李增智，1996；Vandenberg *et al.*, 2001；Feng *et al.*, 2004；Shan and Feng, 2010)。这两种真菌具广泛的寄主谱，但不同菌株又具有不同的寄主专化性(王成树等，1999；Faria and Wraight, 2001；林华峰等，2007)。对这两种真菌的现有研究为褐飞虱的微生物防治提供良好借鉴。但是，要想利用杀虫真菌来防治褐飞虱，首先要寻找到对褐飞虱具有高致病力的真菌菌株，进而进行开发利用，但目前这方面的报道还较少。

本实验在人工气候室内采用分蘖期稻苗笼养法饲养褐飞虱，用不同源寄主和来源地的 3 种昆虫病原真菌(金龟子绿僵菌、黄绿绿僵菌 *Metarhizium flavoviride* 和球孢白僵菌)的 12 个不同菌株对褐飞虱进行了毒力测定，筛选出对褐飞虱具有较高致病力的菌株，并利用该菌株不同浓度的孢子液侵染褐飞虱成虫、不同龄期若虫和卵，借以测定并评价该真菌菌株对不同虫态褐飞虱的毒力，以期能发现该菌株进一步开发利用的价值。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫和供试菌株

供试褐飞虱 2009 年由霍邱县植保站提供，在安徽农业大学植物保护学院智能人工气候室内用川农 2 号水稻苗繁殖 10 代以上，获得不同虫态褐飞虱。供试病原真菌菌株共 12 株(表 1)，其中，黄绿绿僵菌 Mf82 菌株从安徽滁州田间褐飞虱罹病虫体分离，保存于安徽农业大学植物保护学院生物防治研究室；其他由安徽省微生物防治重点实验室提供。

表 1　供试菌株的寄主及原始采集地

Table 1　The hosts and original localities of the tested strains

菌株 Strains	寄主 Hosts	原始采集地 Original localities	初始分离日期 Initial isolating date
Metarhizium flavoviride 82	褐飞虱 *Nilaparvata lugens*	安徽滁州 Chuzhou, Anhui	2010-10-16
Metarhizium anisopliae 853	白背飞虱 *Sogatella furcifera*	安徽霍邱 Huoqiu, Anhui	2010-08-30
M. anisopliae 840	天牛 *Monochamus alternatus*	日本东京 Tokyo, Japan	2005-07-13
M. anisopliae 003	桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*	安徽宣城 Xuancheng, Anhui	2008-05-19
M. anisoplia 981	大青叶蝉 *Cicadella viridis*	安徽宣城 Xuancheng, Anhui	2010-10-27
M. anisoplia 995	象蜡蝉 *Oliarus dimidiatus*	天津农学院 Tianjing Agricultural University	2005-06-25
Beauveria bassiana 68	蛴螬 *Holotrichia diomphalia*	安徽舒城 Shucheng, Anhui	2009-08-20
B. bassiana 53	角蝉 *Leptocentrus taurus*	安徽青阳 Qingyang, Anhui	2003-08-29
B. bassiana 86	小绿茶叶蝉 *Empoasca pirisuga*	安徽黄山 Huangshan, Anhui	2007-11-13
B. bassiana 035	大青叶蝉 *Cicadella viridis*	安徽滁州 Chuzhou, Anhui	2009-05-06
B. bassiana 205	棉叶蝉 *Empoasca biguttula*	安徽黄山 Huangshan, Anhui	2005-08-09
B. bassiana 264	玉米螟 *Pyrausta nubilalis*	河北保定 Baoding, Hebei	2009-05-23

1.2　褐飞虱成虫高毒力菌株的筛选

将 12 个菌株分别接种于 SDAY 培养基平板上，在 25 ± 1℃ 条件下培养 10 d，待真菌充分产孢后，将各个菌株的分生孢子粉刮到分别盛有 10 mL 0.05% Tween-80 湿润剂的三角瓶中，在涡旋混合器上充分振荡 30 min，然后按比例稀释，血球计数板计数，配制成 1.0×10^8 孢子/mL 浓度的孢子液。试验以褐飞虱成虫(羽化后 1 – 2 d)为处理对象，共

12 个处理，每个处理 4 次重复，以 0.05% Tween-80 处理作为对照，共 52 个笼箱，每个笼箱(40 cm ×40 cm×80 cm) 接虫 30 头，用手握式喷雾器对褐飞虱成虫均匀喷施 1×10^8 孢子/mL 的孢子液 10 mL。喷施时放置 3 块盖玻片(15 mm×15 mm) 收集孢子，镜检 5 个视野(0.785 mm^2/视野，5 点取样) 并计数孢子数，以确定褐飞虱实际接收的剂量(孢子/mm^2)。将处理的褐飞虱置于 25±1℃、RH 85% 和光周期 14L∶10D 的恒温培养箱中饲养 10 d。然后逐日统计褐飞虱存活虫数、死虫数和僵虫数。每隔 3 d 更换一次稻苗。

1.3 黄绿绿僵菌不同浓度孢子液对褐飞虱成虫和若虫的毒力测定和侵染症状观察

用黄绿绿僵菌 Mf82 菌株 5 种浓度(5×10^8，1×10^8，5×10^7，1×10^7 和 5×10^6 个孢子/mL) 分别侵染褐飞虱成虫(羽化后 1–2 d) 和不同龄期若虫(分别为蜕皮至当龄后约 12 h)。以 0.05% Tween-80 处理作为对照，每个虫态和对照处理 30 头，重复 4 次。各浓度孢子液配制方法和褐飞虱接菌、饲养方法同 1.2.1。

褐飞虱感染真菌的检测：分别收集试验过程中各处理组喷施过菌液死亡的褐飞虱，在培养皿中保湿培养，分别从其体表和血腔进行真菌分离，并进行真菌学鉴别(Lacey and Brooks，1997)。

1.4 黄绿绿僵菌 Mf82 菌株孢子液侵染褐飞虱卵块试验

选择羽化后 10 d 的褐飞虱 100 头，将其接到处在孕穗期且长势相似的稻株上(接虫前稻株上没有褐飞虱)。从接虫后第 2 天开始观察褐飞虱产卵情况，记录稻株叶鞘上产卵痕的数目。

从 25±1℃、RH 85% 和光周期 14L∶10D 光照培养箱中，取褐飞虱卵龄为 0.5，1.5，2.5，3.5 和 4.5 d 稻株各 1 株(每株产卵数大致相等)，基部以聚氯乙烯线的结数标记卵的发育日龄，用手动喷雾器将浓度为 1×10^8 孢子/mL 的黄绿绿僵菌孢子液喷洒到产卵痕上，每个处理 10 个产卵痕，重复 3 次，以 0.05% Tween-80 水溶液处理卵(卵龄为 0.5 d) 作为对照。经 3 d 后，先观察黄绿绿僵菌对褐飞虱卵块的侵染情况，在解剖镜下解剖产卵痕部位，剥查卵粒并计数，记录每个处理黄绿绿僵菌侵染褐飞虱产卵痕个数、总卵数，并将被侵染的卵转移到放有保湿棉球的培养皿(直径 9 cm) 中，在 25℃ 下培养，观察被侵染卵的发育情况。

1.5 数据统计与分析

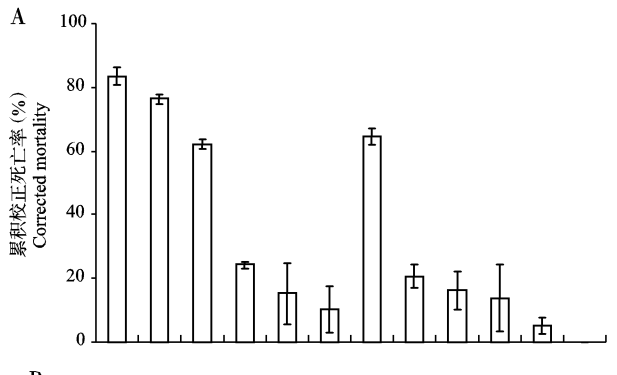
数据进行方差分析之前，百分率数据预先进行反正弦平方根转换，应用 DPS 数据处理系统进行统计分析 (唐启义和冯明光，2002)，用死亡率-时间机率值分析法，以时间(d) 的对数值为 X，死亡率的机率值为 Y，计算出回归方程和致死中时(LT_{50}) (蒲蛰龙和李增智，1996)。并以 Abbott 公式计算校正死亡率：

$$校正死亡率(\%) = \frac{处理组死亡率 - 对照组死亡率}{1 - 对照组死亡率}\times100。$$

2 结果与分析

2.1 不同种真菌菌株对褐飞虱成虫的致病作用比较

筛选的 12 个菌株中，Mf82，Ma853 和 Bb68 菌株对褐飞虱成虫表现出较强的毒力，其中菌株 Mf82 对褐飞虱 10 d 后累计校正死亡率和僵虫率最高，分别达 83.5% 和 89.6%；LT_{50} 最小，为 4.65 d (图 1，表 2)。$LT_{50}>14$ d 的菌株，说明对褐飞虱成虫没有明显的致病性。



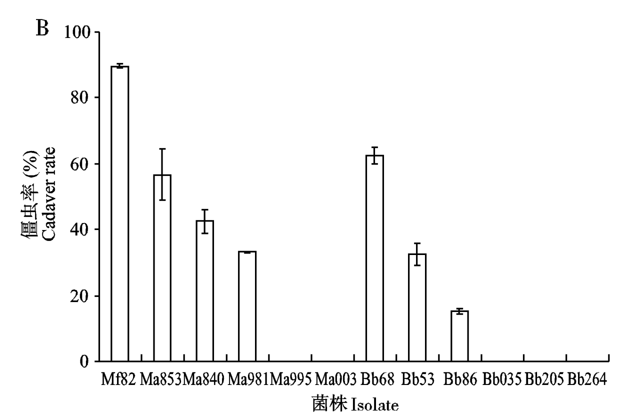


图 1 不同真菌菌株对褐飞虱成虫的校正死亡率(A)和僵虫率(B)

Fig. 1 Corrected mortality (A) and cadaver rate (B) of different fungal strains to the *Nilaparvata lugens* adults

表 2　不同真菌菌株对褐飞虱成虫的致病效果

Table 2　Pathogenic effect of different fungal strains to *Nilaparvata lugens* adults

菌株 Strains	回归方程 Regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient	LT_{50}(d)
Mf82	$Y=-1.1133+8.2690X$	0.9662	4.65
Ma853	$Y=-0.0706+6.7409X$	0.9169	5.64
Ma840	$Y=2.4103+3.7579X$	0.9354	6.89
Ma981	$Y=-0.2216+4.8690X$	0.9116	11.60
Ma995	$Y=0.2413+3.8532X$	0.8796	>14
Ma003	$Y=0.4735+3.2150X$	0.8473	>14
Bb68	$Y=-3.2524+2.2390X$	0.9305	6.34
Bb53	$Y=3.0535+1.9259X$	0.9582	>14
Bb86	$Y=-1.7528+5.7330X$	0.8935	>14
Bb035	$Y=1.3892+2.2312X$	0.8562	>14
Bb205	$Y=1.1147+2.7797X$	0.9755	>14
Bb264	$Y=1.0241+2.8957X$	0.8333	>14

2.2　黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对不同虫态褐飞虱的毒力和侵染症状

黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对不同虫态的褐飞虱均具有致病力(表 3)。不同发育阶段褐飞虱的累积死亡率均随着菌液浓度的增高而增加，各浓度间差异明显。褐飞虱各个虫态的对照处理累计死亡率为 6.7%~10.4%，相互间差异不显著($F_{3,12}=1.63$，$P=0.08$)。在大于等于 1×10^8 个孢子/mL 高浓度下，除了 2 龄若虫，其余虫态的累计死亡率均大于 50%，其中成虫最高为 85.7%，5 龄若虫为 64.3%，4 龄若虫为 58.9%，而 2 龄若虫只有 46.8%。在中等浓度下，只有成虫的累计死亡率大于 50%，为 64.3%。在低浓度下，只有成虫累计死亡率与对照差异显著。说明寄主的死亡率与孢子剂量成明显的正相关。

表 3　黄绿绿僵菌 Mf82 不同浓度孢子液对不同虫态褐飞虱的毒力

Table 3　Virulence of *Metarhizium flavoviride* 82 at different conidial concentrations to different developmental stages of *Nilaparvata lugens*

孢子浓度(孢子数/mL) Conidial concentration (number of spores/mL)	累计死亡率 Cumulative mortality (%)			
	成虫 Adult	5 龄若虫 5th instar nymph	4 龄若虫 4th instar nymph	2 龄若虫 2nd instar nymph
5×10^8	85.7±3.1 a	64.3±8.2 a	58.9±3.1 a	46.8±5.4 a
1×10^8	76.8±8.2 ab	53.6±8.2 b	53.6±6.2 a	42.9±3.1 a
5×10^7	64.3±11.2 b	46.4±5.4 c	39.3±3.1 b	28.6±13.5 b
1×10^7	55.4±8.2 c	37.5±3.1 c	31.9±3.1 bc	12.5±6.2 c
5×10^6	39.3±6.2 d	17.9±11.2 cd	15.0±9.3 c	8.9±9.3 c
0(CK)	10.4±2.8 e	9.2±3.1 d	7.9±1.5 cd	6.7±1.3 c

表中同列数据为平均值±标准差；同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著(Duncan 氏检验)；下同。Data are mean ± *SD* and values followed by different small letters within the same column are significantly different at the 0.05 level (Duncan's test). The same below.

不同虫态的褐飞虱对黄绿绿僵菌 Mf82 的敏感性可用 LC_{50} 和 95% 置信区间值的大小估计，值越小，敏感性越强。试验中的 χ^2 值较小，试验数据之间不存在异质性。黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱

的 LC_{50}值随着虫龄的增加而降低(表 4)，成虫敏感性最强，表现出 LC_{50}最小，为 84(29 ~162) 孢子/mm^2。因此，褐飞虱成虫和不同龄期若虫对 Mf82 菌株敏感性不一，在相近的浓度下，成虫的死亡率明显高于若虫。

实验观察发现，感染黄绿绿僵菌的褐飞虱成虫和若虫初期行动迟缓，雌虫产卵停滞，若虫脱皮困难，最后抱住水稻茎杆死亡，这些现象在对照组(图2：A) 未观察到。感染黄绿绿僵菌的不同虫态褐飞虱 3 d 后随着病情的发展，虫体全身变成褐色，随后 1 ~2 d 从虫体的节间膜、体壁的褶皱凹陷以及足的关节等部位长出白色絮状菌丝，随后菌丝布满全身，直至产生黄绿色分生孢子(图 2：B，C，D)。从接种到完成侵入感染、组织病变、寄主死亡及体外产孢的整个过程，时间最短的为 3 d，最长的为 9 d。

2.3 黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱卵的侵染

从表 5 可以看出，黄绿绿僵菌孢子液对各处理稻株褐飞虱产卵痕部位、稻株中卵粒均有侵染作用，被侵染卵的表面由原来的光滑、透明变为褶皱、橘黄色(图 2：F)。卵龄越低，侵染效果越好，卵龄越高，侵染效果越差；其中对褐飞虱卵龄为 0.5 d的效果最好，产卵痕部位和卵粒的感染率分别为 66.7% 和 51.2%，显著高与其他处理。

表 4 黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对不同虫态的褐飞虱累积死亡率概率分析

Table 4 Outputs of probit analysis on target mortality data due to infection with *Metarhizium flavoviride* 82 isolate against different developmental stages of *Nilaparvata lugens*

褐飞虱虫态 Developmental stages of BPH	LC_{50}和 95% 置信区(孢子数/mm^2) LC_{50} with 95% CI (number of conidia/mm^2)	卡方值 χ^2	相关系数 Correlation coefficient
成虫 Adult	84.6 (29.7 – 162.1) a	0.8122	0.9895
5 龄若虫 5th instar nymph	829.3 (442.4 – 1 910.7) b	1.3670	0.9779
4 龄若虫 4th instar nymph	1 508.6 (759.3 – 4 486.7) c	1.7768	0.9750
2 龄若虫 2nd instar nymph	3 735.5 (1 824.6 – 12 847.3) d	1.5363	0.9828

3 讨论

毒力是衡量杀虫真菌生物防治潜力的重要指标，也是筛选优良菌种(株)的基本依据。菌株毒力受多种因素影响，包括寄主种类、菌种来源、孢子剂量、湿度和温度等环境因素(刘玉军等，2008；何学友等，2011；Zhang *et al*., 2011)。本研究中所测定的 12 个菌株中，对褐飞虱成虫毒力最高是黄绿绿僵菌 Mf82 菌株，在 1.0×10^8 孢子/mL 的孢子液处理 10 d 后，对褐飞虱成虫的累计校正死亡率达 80.0% 以上，LT_{50}仅为 4.65 d，表现出杀虫率较高和杀虫速度较快的优点。黄绿绿僵菌 Mf82 菌株分离自田间自然环境中的褐飞虱，说明在自然环境中具有生存与致病能力。Jackson 等(1985)认为虫生真菌对原始寄主的毒力一般高于其他寄主，对原寄主种类的害虫进行生物防治容易取得成功。在适宜环境条件下，寄主的死亡率和死亡速度与孢子剂量成正相关，无论是成虫还是高龄若虫，试虫的死亡率都随着孢子浓度的提高而增加。黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱的各虫态(龄)均具有致病力，但致病力大小与虫态和虫龄有关，本研究中各孢子浓度下黄绿绿僵菌作用于不同发育阶段的褐飞虱时，毒力大小顺序均为成虫 > 高龄若虫 > 低龄若虫，成虫的死亡率显著高于若虫。李茂业等(2011)利用扫描电镜观察了黄绿绿僵菌分生孢子对褐飞虱的侵染过程，发现分生孢子多分布在褐飞虱节间膜、体表的褶皱凹陷等部位，主要以芽管或产生附着胞入侵，然后在体表长出菌丝和产孢。菌体进入寄主血腔后，利用体腔内营养大量增殖、扩散并侵染组织与器官，通过体表及体内的侵染过程，可直观地表现黄绿绿僵菌对褐飞虱的侵染能力和侵入方式。由此可知，真菌的侵入和致病需一定的时间，由于褐飞虱成虫阶段不再脱皮，真菌的孢子有足够的侵染时间，而若虫阶段需要多次脱皮，有的若虫接触孢子不久就脱皮，就可能摆脱黄绿绿僵菌分生孢子的侵染，从而降低其群体死亡率。其他学者在对真菌不同菌种和寄主的试验中也谈及脱皮的影响。刘银泉等(2003)室内测定了球孢白僵菌对桃蚜 *Myzus persicae* 的毒力，研究表明 1 ~4 龄若蚜感菌后的累积死亡率明显低于成蚜的感菌死亡率，分析其原因是若蚜脱皮降低该菌的毒力，这与本研究

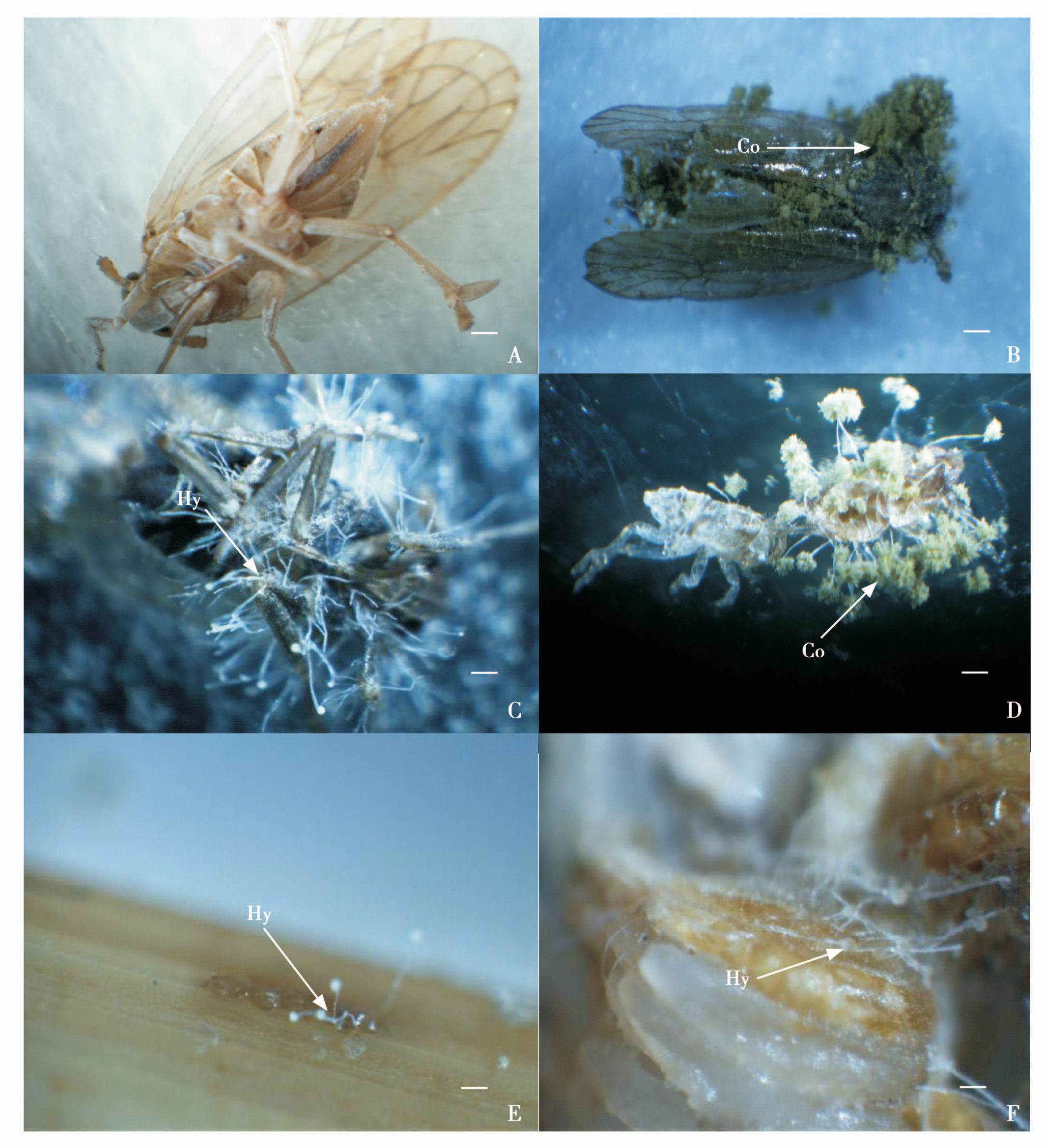


图 2　黄绿绿僵菌 Mf82 侵染褐飞虱症状

Fig. 2　Infection symptom of *Metarhizium flavoviride* 82 to *Nilaparvata lugens*

A：未侵染的褐飞虱成虫(对照) Uninfected BPH adult (CK)；B：黄绿绿僵菌侵染褐飞虱成虫 Infection of *M. flavoviride* 82 to adult BPH；C：腹部孢子萌发入侵 Penetration of germinated conidia on the abdomen；D：若虫 Nymph；E：产卵痕 Oviposition mark；F：卵块 Egg masses. Hy：菌丝 Hyphae；Co：孢子 Conidia. 比例尺 Bars = 200 μm.

表 5　黄绿绿僵菌 Mf82 对褐飞虱卵的侵染效果

Table 5　Infective effect of *Metarhizium flavoviride* 82 to the eggs of *Nilaparvata lugens*

卵龄(d) Egg age	产卵痕感染率(%) Rate of infected oviposition marks	总卵数(粒) Total number of eggs	卵感染率(%) Rate of infected eggs
0.5	66.7 ± 5.8 a	141 ± 8	51.2 ± 1.8 a
1.5	53.3 ± 5.8 b	127 ± 2	36.5 ± 4.3 b
2.5	46.7 ± 5.8 bc	135 ± 4	26.2 ± 2.9 c
3.5	36.7 ± 5.8 c	133 ± 10	17.9 ± 5.1 d
4.5	30.0 ± 10.0 d	132 ± 4	5.0 ± 0.7 e
CK	–	140 ± 3	–

CK：未侵染的褐飞虱卵(卵龄为 0.5 d) BPH eggs (0.5 day-old) uninfected.

结果相一致。

研究发现，黄绿绿僵菌 Mf82 菌株能够侵染稻株内褐飞虱卵及稻株产卵痕部位，但侵染率要低于成虫，以浓度为 1.0×10^8 孢子/mL 的孢子液处理 10 d，褐飞虱成虫的累计死亡率达 83.5%，而卵的累计死亡率最高只有 51.2%。这是因为卵粒位于水稻叶鞘中，仅露出卵帽，且体积小，不易接触到真菌孢子。这与 Shi 和 Feng(2004)的研究结果相似，他们测定了球孢白僵菌、金龟子绿僵菌和粉拟青霉对害螨 *Tetranychus cinnabarinus* 卵的侵染效果，也发现孢子对螨卵侵染率不高，其中效果最好的为球孢白僵菌 Bb2860 菌株，在 1.0×10^8 个孢子/mL 浓度下 9 d，螨卵累计死亡率最高才达 67.4%。所不同的是，害螨卵暴露在植株表面，而褐飞虱卵则在植株体内。值得一提的是，用真菌处理后，褐飞虱卵有的虽未立即死亡，但其生命力表现明显衰弱。在田间，褐飞虱在稻株上产卵时分泌的蜜露，是真菌侵染褐飞虱卵之前的过渡期水分和营养来源，其上所滋生的真菌可正常生长和产孢，可作为田间对褐飞虱再侵染的重要菌源，这对褐飞虱种群的后期控制具有重要意义。

本实验中卵粒的接菌方式采用喷雾法，所得实验结果对田间或温室具有实用价值，以前用的浸渍法(Ekesi *et al*., 2002；Shaw *et al*., 2002)不适合对褐飞虱卵接菌。褐飞虱卵被接菌后的累计死亡率的统计比较困难，因为仅根据卵粒的形状和颜色的变化不能准确判断其死亡与否，因此，本实验采用观察统计卵的孵化率，再换算成累计死亡率，可以准确评估真菌对褐飞虱卵的侵染效果。

昆虫病原真菌是一类环境友好型生防作用物，自从被开发为杀虫剂用于控制农业害虫以来，对环境中的非目标生物的影响远远小于化学杀虫剂(Goettel and Johnson, 1992)。就黄绿绿僵菌而言，已有人对其环境安全性作过评价，据报道，利用此病原真菌防治蝗虫和螽斯时，对田间的瓢虫、拟步甲和蚁蛉等非目标害虫无不利影响(Peveling and Demba, 1997)。从本实验的结果并结合现有的研究分析，黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱成虫、若虫和卵均有较强的致病性，是一株极具应用潜力的杀虫真菌。

参考文献(References)

Alves SB, Tamai MA, Rossi LS, Castiglioni E, 2005. *Beauveria bassiana* pathogenicity to the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*. *Experimental and Applied Acarology*, 37: 117 – 122.

Chung TC, Sun CN, Hung CY, 1982. Resistance of *Nilaparvata lugens* to six insecticides in Taiwan. *Journal of Economic Entomology*, 75: 199 – 200.

Ekesi S, Adamu RS, Maniania NK, 2002. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes to the legume pod borer, *Maruca vitrata* and the pod sucking bug, *Clavigralla tomentosicollis*. *Crop Protection*, 21: 589 – 595.

Faria M, Wraight SP, 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*, 20: 767 – 778.

Feng MG, Pu XY, Ying SH, Wang YG, 2004. Field trials of an oil based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false eye leafhopper *Empoasca vitis* on tea in southern China. *Crop Protection*, 23: 489 – 496.

Goettel MS, Johnson DL, 1992. Environmental impact and safety of fungal biocontrol agents. In: Lomer CJ, Prior C eds. Biological Control of Locusts and Grasshoppers. CAB International, Wallingford. 356 – 361

He XY, Cai SP, Tong YH, Xiong Y, Huang Y, Xie JD, Chen SL, 2011. Pathogenicity evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against adults of *Basilepta melanopus* (Coleoptera: Eumolpidae). *Acta Entomologica Sinica*, 54(11): 1281 – 1287. [何学友，蔡守平，童应华，熊瑜，黄勇，谢家冬，陈顺立，2011. 球孢白僵菌和金龟子绿僵菌不同菌株对黑足角胸叶甲成虫的致病力评价. 昆虫学报，54(11): 1281 – 1287]

Jackson CD, Heale JB, Hall RA, 1985. Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphoniella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology*, 106: 39 – 48.

Jin SF, Feng MG, Chen JQ, 2008. Selection of global *Metarhizium* isolates for the control of the rice pest *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Pest Management Science*, 64: 1008 – 1014.

Lacey LA, Brooks WM, 1997. Initial handling and diagnosis of diseased insects. In: Lacey LA ed. Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press, San Diego. 1 – 15.

Li MY, Lin HF, Jin L, Zhang SY, 2011. Observation on infection process of *Nilaparvata lugens* by *Metarhizium flavoviride* using a scanning electron microscope. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1412 – 1416. [李茂业，林华峰，金立，张松影，2011. 黄绿绿僵菌对褐飞虱侵染过程的扫描电镜观察. 应用昆虫学报，48(5): 1412 – 1416]

Lin HF, Li SG, Zhang L, Wang PL, Zhou YW, 2006. Biological characteristics of *Metarhizium anisopliae* var. *major* and its virulence to white grubs. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17(2): 351 – 353. [林华峰，李世广，张磊，王萍莉，周义文，2006. 绿僵菌大孢变种的生物学特征及其对蛴螬的毒力研究. 应用生态学报，17(2): 351 – 353]

Lin HF, Yang XJ, Gao YB, Li SG, 2007. Pathogenicity of several fungal species on *Spodoptera litura*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18(4): 937 – 940. [林华峰，杨新军，高亿波，李世

广，2007. 几种虫生真菌对斜纹夜蛾的致病性. 应用生态学报，18(4)：937 –940]

Liu YJ，Zhang LW，He YQ，Wang B，Ding DG，2008. Screening of high virulent strains of *Beauveria bassiana* against a dangerous forest cerambycid beetle，*Aphrodisium sauteri*（Coleoptera：Cerambycidae）. *Acta Entomologica Sinica*，51（2）：142 – 149.［刘玉军，张龙娃，何亚琼，王滨，丁德贵，2008. 栎旋木柄天牛高毒力球孢白僵菌菌株的筛选. 昆虫学报，51(2)：142 – 149］

Liu YQ，Zhang FC，Liu SS，2003. Effects of moulting in *Myzus persicae* on the virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Acta Entomologica Sinica*，46(4)：441 –446.［刘银泉，张发成，刘树生，2003. 桃蚜蜕皮对球孢白僵菌毒力的影响. 昆虫学报，46（4)：441 –446］

Liu ZW，Han ZJ，Wang YC，Zhang LC，Zhang HW，Liu CJ，2003. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*：cross-resistance patterns and possible mechanisms. *Pest Management Science*，59：1355 –1359.

Pu ZL，Li ZZ，1996. Insect Mycology. Anhui Science and Technology Press，Hefei. 93 –111.［蒲蛰龙，李增智，1996. 昆虫真菌学. 合肥：安徽科技出版社. 93 –111］

Peveling R，Demba SA，1997. Virulence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride* Gams and Rozsypal and toxicity of diflubenzuron，fenitrothion-esfenvalerate and profenofos-cypermethrin to nontarget arthropods in Mauritania. *Archives of Environmental Contamination Toxicology*，32：69 –79.

Shan LT，Feng MG，2010. Evaluation of the biocontrol potential of various *Metarhizium* isolates against green peach aphid *Myzus persicae*（Homoptera：Aphididae）. *Pest Management Science*，66：669 –675.

Shaw KE，Davidson G，Clark SJ，Ball BV，Pell JK，Chandler D，Sunderland KD，2002. Laboratory bioassays to assess the pathogenicity of mitosporic fungi to *Varroa destructor*（Acari：Mesostigmata），an ectoparasitic mite of the honeybee，*Apis mellifera*. *Biology Control*，24：266 –276.

Shi WB，Feng MG，2006. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri*（Acari：Tetranychidae）in orchards. *Biology Control*，39：210 –217.

Song TT，Feng MG，2011. *In vivo* passages of heterologous *Beauveria bassiana* isolates improve conidial surface properties and pathogenicity to *Nilaparvata lugens*（Homoptera：Delphacidae）. *Journal of Invertebrate Pathology*，106：211 –216.

Tang QY，Feng MG，2002. DPS Data Processing System for Practical Statistics. Science Press，Beijing. 295 –304.［唐启义，冯明光，2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京：科学出版社，295 –304］

Vandenberg JD，Sandvol LE，Jaronski ST，Jackson MA，Souza EJ，Halbert SE，2001. Efficacy of fungi for control of Russian wheat aphid（Homoptera：Aphididae）in irrigated wheat. *The Southwestern Entomologist*，26：73 –85.

Wang CS，Huang B，Fan MZ，Li ZZ，1999. Canonical analysis of different character groups of *Beauveria bassiana*. *Mycosystema*，18（4)：385 –391.［王成树，黄勃，樊美珍，李增智，1999. 球孢白僵菌数量性状的典型相关分析. 菌物系统，18(4)：385 – 391］

Zhang LW，Liu YJ，Yao J，Wang B，Huang B，Li ZZ，Fan MZ，Sun JH，2011. Evaluation of *Beauveria bassiana*（Hyphomycetes）isolates as potential agents for control of *Dendroctonus valens*. *Insect Science*，18：209 –216.

（责任编辑：武晓颖）